

# サイトカイン受容体/Jak キナーゼと会合する新規 情報伝達分子 "STAM" の c-myc 発現誘導における 役割

著者	有田 富和
号	1407
発行年	1998
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21538">http://hdl.handle.net/10097/21538</a>



## 論文内容要旨

我々はこれまでに IL-2 刺激によってチロシンリン酸化を受ける新規分子として STAM を遺伝子単離し、STAM が IL-2 だけでなく IL-3, IL-4, IL-7, GM-CSF, PDGF, EGF によってもリン酸化を受け、IL-2, GM-CSF 刺激においては Jak3, Jak2 キナーゼによって直接リン酸化を受け、c-myc の発現と DNA 合成に関わる重要な分子であることを明らかにしてきた。今回我々は c-myc ルシフェラーゼの実験系を確立するとともに、それを用いて STAM の機能の更なる解析を行った。c-myc の転写活性化の有無が明らかになっている IL-2R の  $\beta$  鎖と  $\gamma$  鎖の変異体を用いて c-myc ルシフェラーゼの活性を測定したところ、ルシフェラーゼ活性の変化は既に知られている内在性 c-myc の転写を反映した物であり、c-myc の転写活性の指標としての c-myc ルシフェラーゼの有効性が明らかになった。STAM の過剰発現は c-myc の転写を大幅に増強するが、この増強は 9 時間という比較的長い増殖因子飢餓を行ったときにのみ顕著に認められる。この理由を検討するため STAM を発現させない条件で増殖因子飢餓の c-myc の発現に及ぼす影響を検討したところ、飢餓時間の延長に従って刺激による c-myc の発現レベルが減少した。

この減少と STAM との関係調べるため、同じ条件で STAM の発現量を測定したところ、飢餓時間が長くなるに従って STAM の発現量が減少した。また増殖因子飢餓による c-myc の発現の減少は STAM を過剰発現させることによってその大部分が回復した。これらのことから STAM が IL-2 刺激による c-myc 転写活性化に関わるシグナルの主要な部分を占めていることが示唆された。STAM による c-myc の転写活性化には STAM の SH3, ITAM, チロシンクラスター領域の全てが必要とされる。チロシンクラスター領域は ITAM と一部重複しているため、ITAM を残して C 末側 6 個のチロシン残基を含む領域を欠損した変異体を作製してその影響を調べたところ、この変異体は c-myc の転写を活性化しなかった。このことから、STAM による c-myc の転写活性化には SH3, ITAM だけでなく C 末端側の領域も重要な機能を持つことが明らかになった。c-myc 以外の Jak キナーゼの下流に存在する初期活性化遺伝子である c-fos と OSM の発現に及ぼす STAM の影響を検討したところ、野生型ならびに用いた全ての変異体はこれらの転写にはあまり影響を与えなかった。このことから Jak-STAT 経路の他に Jak-STAM 経路の存在が明らかになった。サイトカイン刺激による c-myc の転写活性化に関してはいまだに不明の点が多い。そこで、IL-2 刺激に応答する c-myc の調節領域の解析とそれに及ぼす STAM の影響を解析した。その結果、c-myc 遺伝子の 5' 側 2.3kbp の範囲に複数の IL-2 応答領域が存在し、STAM はそれらのうち少なくとも P2 最小プロモーターと 5' 側 1.3kbp にわたる領域に影響することが明らかになった。

## 審 査 結 果 の 要 旨

原がん遺伝子である c-myc は細胞増殖因子の刺激によって転写活性化を受けるが、その転写活性化に至る経路には不明な点が多い。インターロイキン-2 (IL-2) 受容体系では、Jak3 キナーゼが IL-2 刺激による c-myc 発現に必須の役割を果たしていることが分かっているが、その下流のシグナル伝達経路は不明であった。申請者らは先に、IL-2 刺激によってチロシンリン酸化を受ける新規情報伝達分子として“STAM”を単離し、STAM が Jak3/Jak2 と直接会合し、細胞増殖や c-myc 発現誘導に関わることを明らかにしてきた。

本論文は IL-2 刺激による c-myc 発現誘導に関わる STAM の作用機構を解析したものである。c-myc 転写の指標として c-myc/ルシフェラーゼ・レポーター遺伝子を作製し、このレポーター遺伝子を導入した細胞を用いたアッセイ系が IL-2 刺激による内在性 c-myc 転写を反映することを先ず、確認した。この実験系を用いて、IL-2 刺激による c-myc 発現誘導に関わる STAM の機能領域の解析を行った。その結果、SH3, ITAM, C 末側 6 個のチロシン残基を含む領域のいずれの領域も c-myc 転写活性化シグナル伝達に必須であることを明らかにした。他方、Jak3 の下流には Stat5 転写因子が存在し、Stat5 活性化によって c-fos, OSM 等の転写が促進されることが知られている。そこで、STAM による c-fos, OSM の発現に対する影響をみたところ、c-myc のような顕著な転写活性化はみられないが、弱い転写活性化がみられた。従って、Jak3-STAM 経路は主に c-myc 誘導シグナル伝達に関わっていることが示唆された。次に、IL-2 刺激に応答する c-myc 遺伝子上のエレメントと STAM の作用領域との関係について解析した。その結果、IL-2 に応答するエレメントが広範な領域に存在し、この領域の中で少なくとも P2 最小プロモーター周辺と、5' 側から 1.3kbp の領域が STAM を介する転写活性化に重要であることを明らかにした。

本論文は STAM の c-myc 発現における重要性を示し、IL-2 刺激による c-myc 転写活性化機構に新たな知見を与えた。この研究成果はサイトカイン受容体からのシグナル伝達機構の解明にとって重要である。よって本論文は博士号授与に値する研究とみなす。